CHROMOSOMEN UND BEFRUCHTUNG BEI LILIUM MARTAGON

von

J. HEIMANS (Amsterdam).

Mit Tafel VII und 11 Textfiguren.

In den Jahren 1911 und 1912 fixierte und schnitt ich eine grosse Anzahl Blüten- und Fruchtknospen von *Lilium martagon* in der Absicht, einige vollständige Präparatenserien der Reifeteilungen, Befruchtungsstadien und Embryo-Entwickelung dieses klassischen Musterbeispiels herzustellen zum Gebrauch beim praktischen Unterricht in Pflanzen-Anatomie des Professors Hugo de Vries, dessen Assistent ich damals war. Von den vielen tausenden hergestellten Schnitten giebt es einige wenige, die etwas darbieten, das auch jetzt vielleicht noch einiges Interesse erregen dürfte, obgleich ein Teil davon inzwischen von anderen Autoren ebenfalls beobachtet und beschrieben worden ist.

Chromosomenpaarung in generativen Kernen.

Die ersten Fixierungen wurden an einem Lilium-Exemplar vorgenommen, das 1905 als Zwiebel aus dem Süd-Harz mitgebracht worden war und alljährlich im Garten reichlich blüht. Die Blüten wurden künstlich bestäubt, z. T. mit dem eigenen Pollen, z. T. mit dem einer anderen, vor Jahren gekauften martagon-Pflanze unbekannter Herkunft. Die Befruchtung aber gelang damals nicht. Obgleich die Pollenschläuche sich gut in die Narbe einbohrten und bis weit in den Griffelkanal eingedrungen vorgefunden wurden, setzte sich keine einzige Frucht.

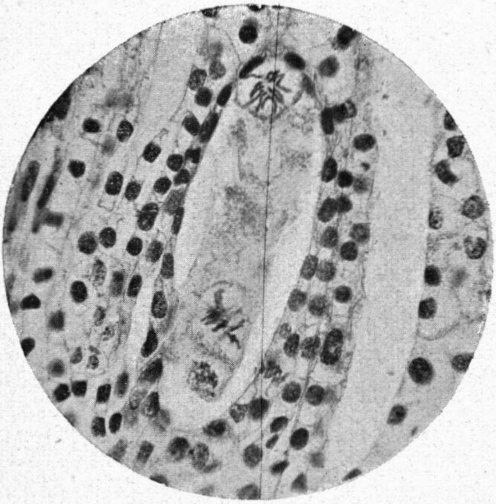


Fig. 1.

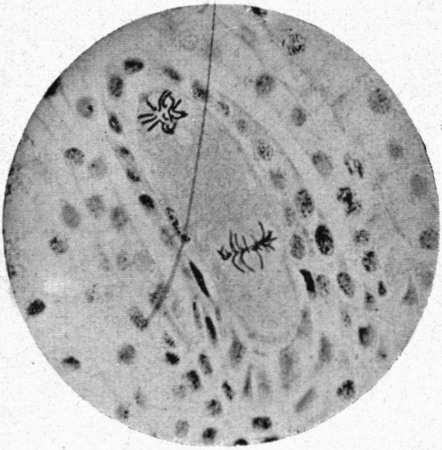


Fig. 2.

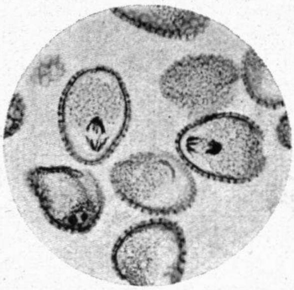


Fig. 5.

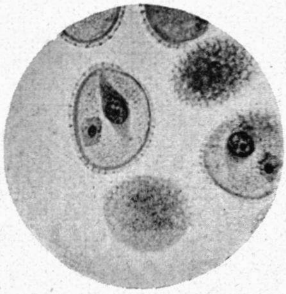


Fig. 6.

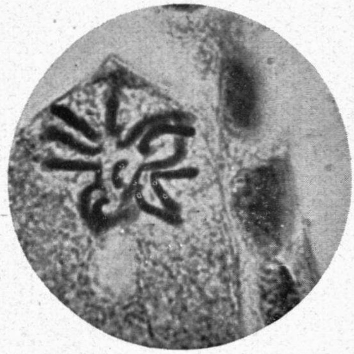


Fig. 3.

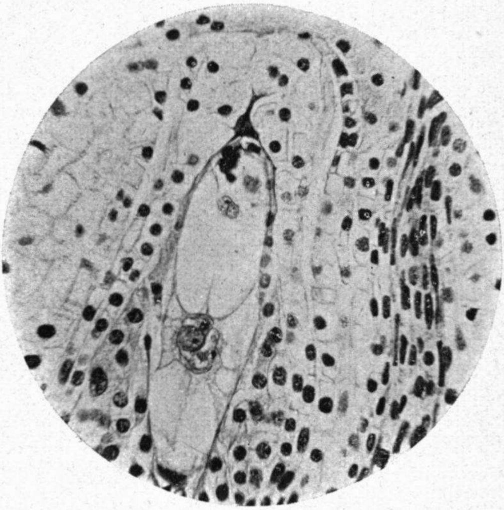


Fig. 4.

Lilium martagon.

Photo Heimans.

Während also dieses Material für Befruchtungsstadien wertlos war, lieferte es gute Stadien der Reifeteilungen. Das Präparat der photogr. Fig. 1 stammt hierher. Der betreffende Fruchtknoten wurde einer Blüte entnommen, die sich am vorherigen Tag (Ende Juni 1911) geöffnet hatte und am selben Nachmittage bestäubt worden war. Fixiert wurde mit Kaiser's Sublimat-Gemisch, geschnitten in einer Dicke von 15 μ, gefärbt mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain.

Der Embryosack dieser Fig. 1 ist offenbar fixiert worden während des letzten Teilungsschrittes der haploiden Phase, der Teilung von 4 in 8 Kerne.

Am chalazalen Ende liegt der erste Antipodenkern, welcher, nach den Angaben von Miss Sargant und Strasburger, auf verschiedene Weise degenerieren kann. In der Regel entstehen durch „Amitose" aus diesem Kerne zwei Kerne für die beiden unteren Antipoden. In unserem Bilde ist schon der degenenerative Zustand dieses Kernes erkennbar.

Nächst diesem Kerne liegt im Bilde die Teilungsspindel, welche den dritten Antipodenkern und den einen (chalazalen) Polkern liefert.

Am anderen Ende des Embryosackes liegt, gerade in der Ebene des Schnittes, die Kernplatte eines der beiden mikropylaren Kerne.

Der zweite mikropylare Kern findet sich im gleichen Teilungsstadium (Metaphase) im nächsten Schnitte der Schnittserie; aber die Kernplatte steht senkrecht zu der ersteren, also auch zur Gesichtsebene. Infolgedessen kann man die Chromosomen zwar noch zählen, ihre Gestalt lässt sich jedoch nicht ermitteln.

Was beim Beschauen dieser Präparate einem wohl am ersten auffällt, ist die enorme Grösse der haploiden Chromosomen (bis 15 μ lang und fast 2 μ dick) im Vergleich zu denen im vegetativen Gewebe. Man achte z. B. auf die

Chromosomen in einer Nucelluszelle rechts unten im Bilde. Nach der auch jetzt noch am meisten vertretenen Annahme der Chromosomen als Träger der Erbanlagen und des Vorhandenseins aller erblichen Faktoren der Spezies in jeder Zelle, müssen jedoch die kleinen Chromosomen der diploiden Zellen die nämlichen Erbfunktionen tragen wie die massaleren der Embryosackkerne. Daraus ergiebt sich eine Mahnung zur Vorsicht bei Betrachtungen, wobei aus dem Grössen- (Längen-) Verhältnis zweier Chromosomen ein Schluss auf die Zahl der von ihnen representierten Erbfaktoren gezogen wird.

Die schöne Kernplatte der Fig. 1 lässt die Zahl der Chromosomen ohne Schwierigkeit als 12 erkennen.

Bei genauerer Betrachtung, zumal mit einer stärkeren Vergrösserung, fällt nicht nur eine Ungleichheit nach Gestalt und Grösse der einzelnen Chromosomen auf, sondern es stellt sich auch heraus, dass es deren sechs Sätze von je zwei gleichen gibt. Zuerst erblickt man das Paar der beiden V-förmig gestalteten Chromosomen. Was aber noch merkwürdiger ist: die gleichgestalteten Chromosomen liegen auch paarweise zusammen. Wenigstens mit vier der sechs Paare ist das sehr deutlich der Fall und nur das Paar der V-ähnlichen Chromosomen und das in der Zeichnung (Fig. 8) mit d d' bezeichnete Paar liegen etwas mehr auseinander.

Während eine paarweise Anordnung der Chromosomen in somatischen Zellen bekanntlich oft beobachtet wird, ist eine solche wie hier im haploiden Kern des Embryosackes gewiss bemerkenswert, indem ja die elterlichen Chromosomen durch die Reduktionsteilung bereits von einander getrennt wurden. Die paarweise Gruppierung tritt bei der Beobachtung des Präparates deutlicher hervor als in Zeichnungen und Photographien, die immer nur eine Projektion der Chromosomen darstellen. Diese liegen n.l. nicht genau in der Ebene der Kernplatte, sondern treten mit

langen Schleifen in verschiedenen Richtungen heraus. Die beiden Schleifen eines Paares liegen dann aber hie und da sehr deutlich zusammen in einer schiefen Ebene und verlaufen parallel zu einander schräg nach unten oder oben. In der Fig. 8 ist durch Schraffierung versucht worden, diese parallele Stellung der Chromosomen besser zur Darstellung zu bringen.

Da mir damals unbekannt geblieben war, dass eine Paarung von Chromosomen in der haploiden Phase bereits im Jahre vorher (1910) von Tahara und Kuwada beobachtet worden war, und nur ein Vergleich mit tetraploiden Arten wie *Drosera longifolia* und *Oenothera gigas* de Vries sich aufdrängte, war mir viel daran gelegen, diese unerwartete Paarung durch weitere Präparate einwandfrei nachzuweisen. Das ganze gleichaltrige Material wurde dazu in Schnitte zerlegt. Ich fand zwar noch eine Anzahl Embryosäcke in demselben Teilungsstadium, aber in keinem von diesen lag auch nur eine Kernplatte genau parallel zur Schnittebene. Es scheint eine Regel zu sein, dass in diesem Stadium die beiden oberen Teilungsspindel zwar senkrecht zu einander orientiert sind, jedoch beide in der Schnittebene (d.i. quer zur Längsachse des Fruchtknotens) liegen. Die Figuren Strasburger's (1908; Taf. II fig. 19, 20, 21) deuten auch darauf hin. Wenn man die Fruchtknoten der Länge nach schneidet, ist die Aussicht auf flachliegende Kernplatten noch geringer. Die beiden anderen Kerne des Embryosackes sind zu unserem Zwecke unbrauchbar, da sie nicht die normale haploide Chromosomenzahl aufzuweisen haben (Strasburger 1908, u. A.)

Im Sommer 1912 fixierte ich im hiesigen Botan. Garten mit dem Flemmingschen Gemisch wiederum eine grosse Zahl Fruchtknoten von Lilium martagon, diesmal von Exemplaren, die mit meinen Ex. von 1911 nichts zu tun hatten und sogar in der Form und Behaarung der jungen Blütenknospen nicht unerheblich von ihnen abwichen. Von

diesen Pflanzen bekam ich von allen künstlich bestäubten Blüten reife Früchte.

Von den in sehr grosser Zahl hergestellten mit Heidenhain's Haematoxylin gefärbten Präparaten war es diesmal wieder nur eins, welches eine genügend deutliche, genau in der Schnittebene gelegene Kernplatte darzubieten hatte (s. Fig. 2, 3 und 9). Der betreffende Embryosack war offenbar um einen Teilungsschritt jünger als der oben besprochene und zeigt die Metaphase der homoiotypischen Teilung oder bei Lilium bekanntlich den Übergang vom zweikernigen zum vierkernigen Stadium des Keimsackes. Von einer Spaltung der Chromosomen, die hier gewiss stattgefunden hat ist nichts zu sehen. Nach Miss Sargant tritt es bei Lilium im Embryosack immer viel weniger deutlich hervor als in den Pollenmutterzellen.

In dieser einzig brauchbaren Kernplatte liegen die Chromosomen ohne Zweifel in derselben Weise gepaart wie in der in unseren Figuren 1 und 7 abgebildeten. Beim ersten Blick ist die Paarung vielleicht nicht ganz so augenfällig, aber bei näherem Zusehen, wobei auch auf die schräge Stellung der Chromosomen geachtet wird, in Fig. 10 wieder durch Schraffierung angedeutet, ist sie mindestens ebenso deutlich oder sogar noch deutlicher. Das Paar der V-ähnlichen Chromosomen fällt wiederum zu allererst ins Auge. Hierzu muss ich noch bemerken, dass der umgebogene Fortsatz am Ende, der dem einen V dieses Paares zu fehlen scheint, dennoch anwesend ist, und sich, vom Mikrotommesser entfernt, im nächsten Schnitte des Paraffinbandes befindet. Ähnliches gilt für den im Zentrum der Platte liegenden Haken. Wenn ich die beiden benachbarten Schnitte mit dem Abbeschen Zeichenapparate zeichne und die Zeichnungen mittels Pauspapier aufeinander lege, so gelangen die beiden abgeschnittenen Enden genau an die erwarteten Stellen und erhält der zentrale Haken dieselbe Länge wie sein Partner, der sich zwischen die beiden V

schiebt. Diese zwei angeschnittenen Enden sind auch die Einzigen, welche die Schnittebenen erreichen, wie bei hoher und tiefer Einstellung des Mikroskopes festzustellen ist. (Fig. 2, 3, 9 u. 10).

Auch in den Jahren 1913 und 1914 habe ich noch zahlreiche Fruchtknoten fixiert und eine grosse Menge Präparate angefertigt, jedoch ohne jemals wieder eine gute Kernplatte in der erwünschten Lage zu Gesicht zu bekommen. Einige Teilungsspindel, die schräg zur Schnittebene orientiert waren, erlaubten allerdings noch etwas vom Gepaartsein der Chromosomen zu erspüren.

Beim Durchsuchen der älteren Literatur fand ich bei Guignard (1889) eine Figur von L. martagon, die genau meiner Fig. 2 entspricht und in der deutlich eine Paarung der generativen Chromosomen zu erblicken ist, wenigstens für jemand der diese Paarung einmal als Tatsache erkannt hat.

Die Reifeteilungen in den Antheren, denen man die korrespondierenden Stadien leichter entnehmen könnte, eignen sich wenig zur Untersuchung, weil die langen Schleifen der Chromosomen in den Metaphasen der homoiotypischen und der beiden darauf folgenden haploiden Teilungen in gar zu unvollständiger Weise in eine Ebene eingeordnet werden.

Aus dem ganzen Verlauf der männlichen generativen Phase sind es nur die Äquatorialplatten der heterotypischen Teilung, welche zum Vergleich herangezogen werden könnten.

In diesem Stadium sind die korrespondierenden elterlichen Chromosomen bereits wieder deutlich von einander getrennt, liegen aber noch nahe zusammen, teilweise umeinandergeschlungen, und sie sind so stark verkürzt, dass sie in der Äquatorialebene der Pollenmutterzelle Platz finden. Jedes der Gemini muss natürlich mit einem Einzelchromosom der Embryosackkerne verglichen werden. An

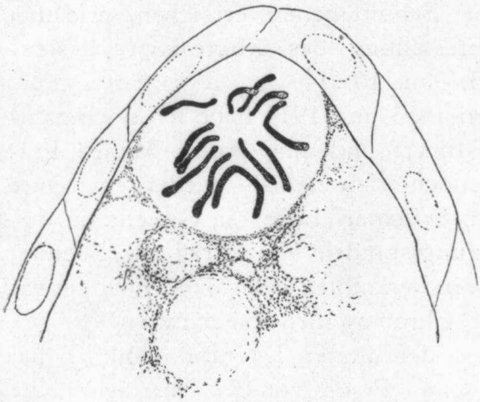


Fig. 7.



Fig. 8.

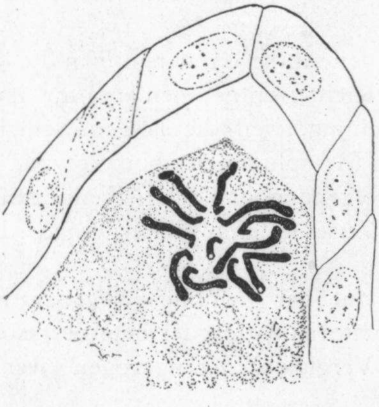


Fig. 9.



Fig. 10.

Fig. 7. Die Kernplatte der Fig. 1, Tafel VII. Vergr. 760 ×. Fig. 8. Dieselbe Kernplatte; die Chromosomen-Paare sind der Länge nach mit Buchstaben bezeichnet; die parallele Stellung der zusammengehörigen Chromosomen durch Schraffierung angegeben. Vergr. 720 ×. Fig. 9. Die Kernplatte der Fig. 2 u. 3, Tafel VII. Vergr. 760 ×. Fig. 10. Die homologen Chromosomen sind mit denselben Buchstaben bezeichnet wie die der Fig. 8. Vergr. 720 ×.

günstig getroffenen Kernplatten kann man zwei der Gemini an deren V-Form sofort als homolog mit den haploiden Chromosomen der Keimsackkerne erkennen; mit den anderen, die nur an ihrer relativen Länge zu unterscheiden sind, gelingt das nicht so leicht und sicher. (s. Fig. 11 und 12.)

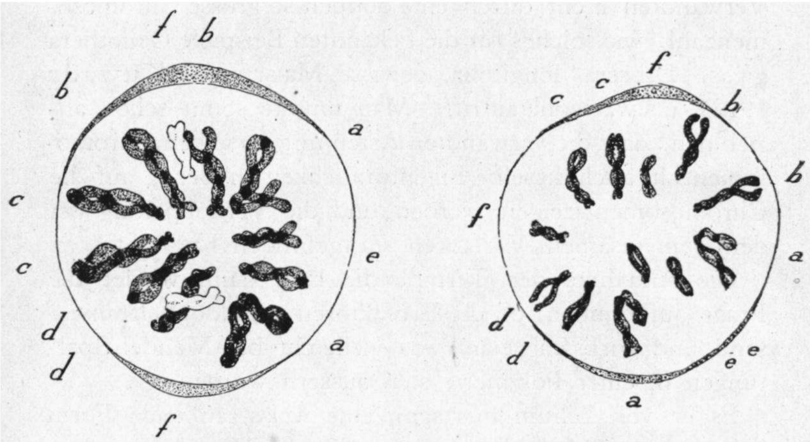


Fig. 11. Fig. 12.

Fig. 11 u. 12. Zwei Pollenmutterzellen in Reduktionsteilung; Äquatorialplatte der heterotypischen Teilung. Die Gemini liegen gepaart; sie sind in der nämlichen Weise mit Buchstaben bezeichnet wie die Chromosomen der Fig. 8 u. 10.

Das gesuchte paarweise Zusammenliegen konnte ich, obgleich es bei diesen stark verkürzten und gedrehten Doppelbildungen nicht so auffällt wie bei den schlanken haploiden Einzelchromosomen, hier und da beobachten. Zwar nur hier und da, aber gerade in den wenigen Äquatorialplatten, wo man es zu sehen erwarten konnte, weil sie in allen Hinsichten günstig gelagert sind und richtig getroffen wurden. Die zwei Glieder eines Paares stimmen auch überein in der Zahl und Weise der Überkreuzungen. (Fig. 11 u. 12).

Obgleich ich es also nur einige Male einwandfrei be-

obachten konnte, so halte ich es doch für sicher, dass die Chromosomen in den generativen Kernen von Lilium martagon gepaart sind. Der Gedanke liegt nun natürlich nahe, dass bei der Entstehung der Spezies Lilium martagon L. eine Verdoppelung der Chromosomenzahl stattgefunden hat. Es unterscheidet sich aber das Lilium martagon von seinen Verwandten nicht durch eine doppelt so grosse Chromosomenzahl, wie solches für die bekannten Beispiele Oenothera gigas, Drosera longifolia, gewisse Maisrassen (Kuwada 1912) u.s.w. wohl zutrifft. Man müsste somit schon annehmen, dass die verwandten Arten mit derselben Chromosomenzahl auch dieselbe Eigentümlichkeit in Bezug auf die Chromosomen zeigen werden und die Verdoppelung bei den gemeinsamen Vorfahren stattgefunden hat.

Die Annahme der Tetraploidie lässt dann wieder die Frage aufkommen, ob die Erbfaktoren auch doppelt anwesend und wirksam seien, was vielleicht bei Mendel-Spaltungen in einer Polymerie sich äussern würde.

Es ist von Lilium martagon eine weiss-blühende Form bekannt, sowohl wildwachsend (z.B. im Heutal, Bernina-Gebiet) als auch aus der Kultur erhältlich, mit der man Kreuzungen vornehmen könnte. Bei den bekanntesten Forschern auf diesem Gebiete und bei einigen der grössten Züchter habe ich nachgefragt und vernommen, dass dergleiche Kreuzungsversuche mit Lilium ganz besonders schwierig sein würden, wenn überhaupt in zuverlässiger Weise möglich, jedenfalls bis dann nicht bekannt geworden sind. Mir ist es nicht einmal gelungen, gekaufte Zwiebel des Lilium martagon „fl. albo" zum blühen zu bringen.

Wenn nun die 12 Chromosomen der generativen Kerne paarweise einander gleich sind, so müssen wir in den somatischen Zellen 4 gleiche Sätze von je 6 Chromosomen erwarten. Es gelingt aber nicht, z.B. in Querschnitten von Wurzelspitzen, etwas davon zu sehen. Die langen Chromosomen liegen in den verhältnismässig kleinen Zellen im

„Aster-Stadium" nicht annähernd flach, sondern die langen Schleifen biegen nach beiten Seiten weit aus, so dass man weder Länge noch Gestalt der einzelnen Chromosomen beurteilen kann.

Strasburger fand bei der Entdeckung der Chromosomen-Paarung in vegetativen Kernen in älteren Figuren den Beweis dafür, dass diese Erscheinung schon vorher unbewusst gesehen war. Ebenso glaube ich eine Andeutung von zu vieren gleichgestalteten Chromosomen in seinen Figuren sehen zu können, und zwar nicht in denen für Lilium martagon, sondern für Galtonia candicans (Strasburger 1906) und besonders in der Figur, welche für das Bonner Lehrbuch gezeichnet wurde (16e. Aufl. S. 19). In dieser Figur sind deutlich von den kleinen Chromosomen 4 beisammen gleich gross, und man kann, wenn man darauf achtet, in den übrigen 6 Chromosomen-Paaren dreimal zwei gleiche Paare unterscheiden; im Ganzen also 4 Paare von Chromosomen-Paaren.

Hierin fand ich Veranlassung, auch von Galtonia Fruchtknoten zu untersuchen, um die Reifeteilungen zu vergleichen, bekam aber keine dazu nützlichen Bilder. Hier sind gerade wieder die vegetativen Teilungen in den Wurzelspitzen zweckdienlicher.

Clemens Müller (1911) beschreibt diese Teilungen für Galtonia und giebt als Masze der Chromosomen: 2 Paare von $1\frac{1}{2}\,\mu$, 2 Paare von $3\frac{1}{2}\,\mu$ und 4 Paare von $7\frac{1}{2}\,\mu$. Es scheint mir nicht unmöglich, dass die 4 grössten Paare noch wieder dadurch zu unterscheiden seien, dass zwei der Paare am einen Ende etwas mehr angeschwollen sind als die anderen. Es würden dann auch hier 4 Gruppen von 4 gleichen Chromosomen zu finden sein. Die gleichen Paare liegen aber ebensowenig in meinen Figuren wie in denen Cl. Müllers zu „Vierergruppen" zusammen, wie man sie in der genannten Figur des Bonner Lehrbuches zu entdecken vermag.

Nawaschin giebt in der nämlichen Publikation, womit er die Entdeckung der Trabanten bei Galtonia bekannt gab an, dass in den somatischen Kernen sogar das Zusammenliegen in Paaren der Chromosomen nicht regelmässig auftritt. (Nawaschin 1912).

Es wird gewöhnlich angenommen, dass es bei der Reduktionsteilung eine gewisse Affinität zwischen den korrespondierenden Chromosomen sei, welche die übereinstimmenden väterlichen und mütterlichen Chromosomen zu Paaren zusammen führt.

Dieselbe hypothetische Anziehungskraft mag dann in dem hier beschriebenen Falle zwischen den gleichgestalteten und vielleicht auch gleichwertigen Chromosomen auftreten und das paarweise Zusammenliegen verursachen. Man könnte sich dabei noch vorstellen, dass auch diese Gruppierung schon bei der Reduktionsteilung stattgefunden habe und in den hier gezeigten Teilungen entweder von neuem wiederhergestellt, oder, in der Annahme einer gewissen Ortsfestheit der Chromosomen (s. unten), bis in diese erst- und zweitfolgenden Teilungen sich erhalten habe, seit der Diakinese. Man vergleiche hierzu auch die Paarung in der heterotypischen Metaphase der Pollenmutterzellen. (Fig. 11 und. 12).

Die Reihenfolge der Chromosomen in der Kernplatte.

Die beiden oben besprochenen Kernplatten der Fig. 1 und. 2 wurden noch eingehender mit einander verglichen und es wurde versucht, jedes der sechs Paare Chromosomen des einen mit einem des anderen Kernes zu homologisieren.

Mit dem V-förmigen und einigen weiteren Paaren gelingt das ohne Schwierigkeit, mit den übrigen nur mit Mühe und nicht in ganz einwandfreier Weise.

Um die Länge der gekrümmten und verkürzt gesehenen Chromosomen vergleichen zu können, modellierte ich diese

bei sehr starker Vergrösserung mit Hilfe des Zeichenapparates nach aus Stückchen Bindfaden, welchen die richtige Krümmung und der richtige perspektivische Stand gegeben wurde und welche nachher gerade gestreckt und neben einander gelegt wurden. Dieses Verfahren wird zwar nicht viel, doch gewiss etwas beigetragen haben zur richtigeren Längenbestimmung.

In dieser Weise wurden die Chromosomenpaare der Fig. 8 der Länge nach mit den Buchstaben *a* bis *f* bezeichnet. In der Abb. der anderen Kernplatte wurden dann nach gleich sorgfältiger Beobachtung die nach Länge und Form homolog erscheinenden Chromosomen mit den selben Buchstaben versehen. Vergleicht man nun die Reihenfolge der Buchstaben in der ersten Kernplatte mit den der zweiten, so ergiebt sich die erstaunliche Tatsache, dass die Buchstaben, d. h. die homologen Chromosomen in derselben Reihenfolge liegen; nur so, dass die eine Platte das Spiegelbild der anderen darstellt. Dieser Unterschied ist natürlich bedeutungslos und könnte schon dadurch verursacht sein, dass der eine Fruchtknoten mit dem Griffelende, der andere vielleicht mit dem Stielende nach oben geschnitten wurde.

Natürlich bin ich weit davon entfernt, jetzt behaupten zu wollen, die Chromosomen von Lilium martagon lägen in den generativen Teilungen immer in einer bestimmten Reihefolge. Ich verfüge leider nur über zwei Kernplatten, zwar von ganz verschiedener Herkunft, wähernd die geringfügigen Grössen- und Form-Unterschiede und die schräge Lage der Chromosomen die Homologisierung erschweren. Es mag sein, dass dieses merkwürdige Ergebnis zum Teil auf Zufall, zum Teil auf fehlerhafte Homologisierung beruht. Doch kann ich nicht umhin zu glauben, dass dieser „Ortsfestheit" der Chromosomen wenigstens eine Spur von Realität zukommt. Der Wahrscheinlichkeitsgrad, dass bei rein zufälliger Lage in den zwei Kreisen nur drei (bestimmte)

von den sechs Objekten in der nämlichen Reihenfolge auftreten würden, beträgt nur noch 1 : 10.

Man achte auch auf die Übereinstimmung in der Stellung des Paares *e*, welches sich in beiden Fällen zwischen den zwei V-förmigen Chromosomen einschiebt und eigentlich z. T. oberhalb dieser Chromosomen liegt.

Die Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen konnte auch hier zum Vergleich herangezogen werden. Obgleich die umeinandergeschlungenen Gemini nicht ohne Bedenken mit den haploiden Chromosomen der Embryosackkerne homologisiert werden können, ist es doch wenigstens bemerkenswert, dass auch hier in den richtig getroffenen Äquatorialplatten das sofort auffallende V-förmige Paar regelmässig entweder getrennt oder überlagert wird von einem mittellangen Paare, während gleich daneben ein sehr langes (das längste) der stabförmigen Paare folgt. (Fig. 11 und 12). Ganz vorsichtig gesagt: nach dem, was ich von günstig getroffenen heterotypischen Kernplatten der Pollenmutterzellen gesehen habe, scheint es mir nicht unwahrscheinlich, dass auch dort die Paare in derselben Reihenfolge liegen.

Verschiedene Zytologen haben Beobachtungen publiziert, oder Erwägungen geäussert, die zu der Annahme einer gewissen Ortsfestheit der Chromosomen berechtigen könnten. So hat Stomps (1910, S. 124) aus der charakteristischen Anhaftungsweise der Chromosomen eine Konstanz der Zugfäden deduziert, welche doch schon eine gewisse Ortsfestheit der Chromosomen in Bezug auf das umgebende Zytoplasma mit sich bringt. Später hat Grégoire (1924) die Meinung geäussert, die Chromosomen seien mit einem Ende an der Kernwand in dauerndem Kontakte mit dem Zytoplasma; danach würde also jedes Chromosom an einer festen Stelle der Kernwand verankert sein.

Anderseits kann man bei verschiedenen Autoren gegenteilige Beobachtungen und Äusserungen finden. So kommt

Meek (1912) auf Grund von viel ausgiebigeren und viel genaueren Messungen als die meinigen ausdrücklich zum Schlusse, die Chromosomen liegen in den Kernplatten von Stenobothrus nicht in einer bestimmten, sondern in zufälliger Reihenfolge.

Von dem als Schulbeispiel so viel gebrauchten Lilium martagon sind gewiss sehr viele Präparate, auch von diesen Reifeteilungen, im Besitze verschiedener Botaniker und Institutsdozenten. Wenn dieser oder jener seine Präparate mal mit den hier gegebenen Abbildungen vergleichen wollte, so ist dadurch vielleicht schon eine Bestätigung zu erreichen. Die Hoffnung darauf war der Hauptgrund zum Publizieren meiner gar zu unvollständigen Beobachtungen.

Auch diese Erscheinung habe ich bei Galtonia wiederzufinden gesucht in den oben genannten, bereits publizierten Figuren und in eigenen Präparaten. Es ist in dieser Hinsicht vielleicht schon bemerkenswert, dass in allen drei Figuren Cl. Müller's (1911 Fig. 35, 36, 37) die zwei Paare der $3\frac{1}{2}$ μ langen Chromosomen an der einen Seite der Kernplatte liegen, jedesmal mit einem $7\frac{1}{2}$ μ langen Paare zwischen sich. In meinen eigenen Galtonia-Präparaten, die ich absichtlich von den Keimwurzeln der gekeimten Samen schnitt, um jedesmal ein anderes Individuum zu studieren, fand ich sogar von dieser Übereinstimmung nicht einmal etwas wieder.

Die doppelte Befruchtung.

Übersichtliche und vollständige Figuren der Befruchtung und Kernfusion bei deutlichen grosskernigen Objekten wie Lilium martagon findet man in der neueren Literatur, soviel ich weiss, nicht viele (Mottier 1904; Nawaschin 1909; Blackman and Welsford 1913). In den Lehrbüchern sieht man noch oft die alten Figuren Guignard's (1899), oder es werden schematische Figuren ge-

geben. Es ist daher vielleicht nicht ganz nutzlos, hier noch die Fig. 13 zu reproduzieren.

Dieses Übersichtsbild ist nur in dem Sinne nicht getreu nach der Natur kopiiert, dass der betreffende Embryosack, der etwas schräg zur Schnittfläche lag, auf drei Schnitten verteilt war, welche mit dem Abbeschen Zeichenapparate aufeinander gezeichnet wurden. Um dieses Stadium zu treffen, musste ich die Fruchtknoten etwa 3 × 24 Stunden (66—78 St.) nach der Bestäubung fixieren, falls diese am Abend nach dem Aufblühen vorgenommen wurde. Wenn man die frisch geöffneten Blüten früher am Tage bestäubt, muss mit einem etwas längeren Intervall gerechnet werden. Welsford (1914) gibt hierfür 5 Tage; so lange dauerte es hier nie. Aus unserer Fig. 13 ist vorerst ersichtlich, dass hier, wie schon Nawaschin (1898) angiebt, die beiden Polkerne vor der Befruchtung nicht zum sekundären Embryosackkerne verschmelzen. Der an den einen Polkern angeschmiegte generative Kern ist schon deutlich angeschwollen und vakuolisiert, während der zweite Polkern noch weit entfernt, nahe dem anderen Ende des Embryosackes, sich befindet. Der andere generative Kern ist noch wenig vakuolisiert und nicht ganz so fest an den Eikern gedrückt. Es ist leicht möglich, beim Färben den beiden männlichen Kernen eine Kontrastfarbe gegenüber dem Polkerne und dem Eikerne zu verleihen. Am besten fielen jene Präparate aus, welche zuerst mit Eisen-Haematoxylin nach Heidenhain leicht koloriert und nachher mit Erythrosin und Cyanin nachgefärbt wurden. Es färben sich dann die generativen Kerne blau, während die grossen Polkerne und der Eikern hellrot mit schwarzen Nucleoli und Chromatin-Körnchen erscheinen. Leider verschwindet die blaue Farbe des Cyanins nach längerer Zeit, während die rote des Erythrosins sich, ebenso wie die des Haematoxylins, auch jetzt nach 15 Jahren noch ganz unverändert gehalten hat.

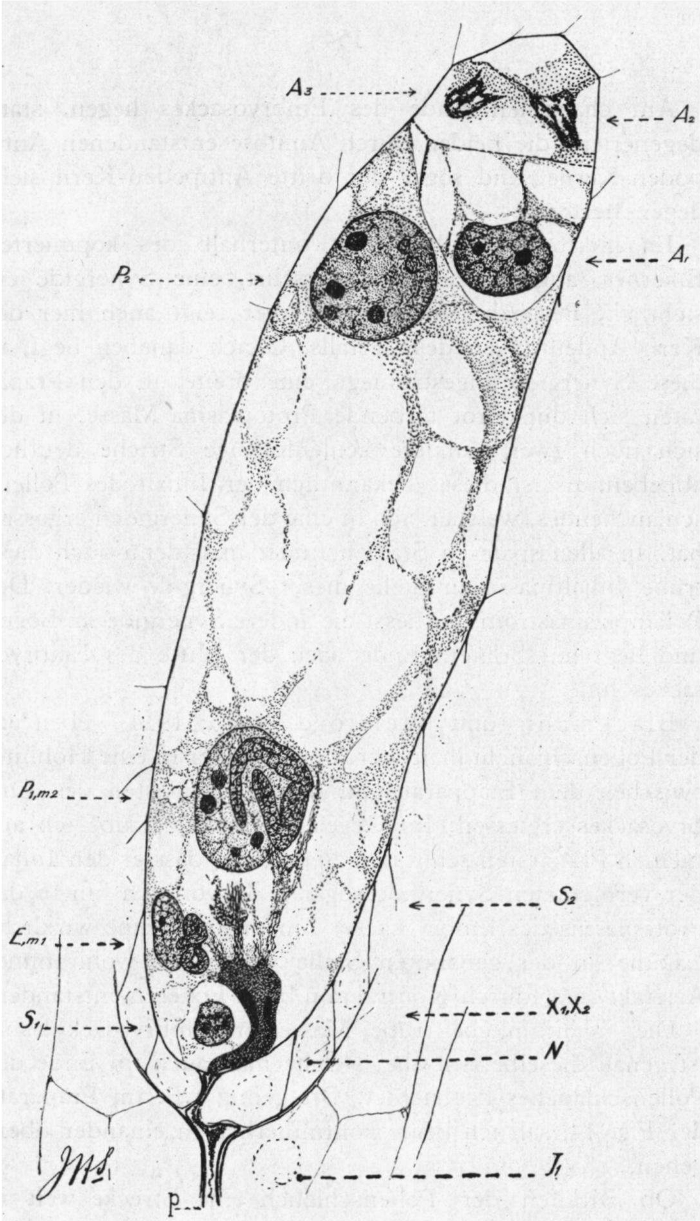


Fig. 13. Die doppelte Befruchtung. Vergr. 520 ×. J_1: inneres Integument. N: Nucellus. p: Pollenschlauch. X_1, X_2: die beiden X-Körper. S: intakt gebliebene Synergide. S_2: Rest des Kernes der vernichteten Synergide? E, m_1: Eikopulation. P_1, m_2: Polkern mit dem zweiten Spermakern. P_2: Zweiter Polkern. A_1, A_2, A_3: Antipoden.

Am chalazalen Ende des Embryosackes liegen, stark degeneriert, die beiden durch Amitose entstandenen Antipoden-Kerne, und sogar der dritte Antipoden-Kern sieht degeneriert aus.

Im mikropylaren Ende ist unterhalb des kopulierten Eikernes, augenscheinlich unversehrt, eine Synergide ersichtlich. Bei näherem Zusehen aber zeigt auch hier der Kern Andeutungen des Zerfalls. Gleich daneben liegt, an diese Synergide angeschmiegt, eine breite, in den Präparaten sich dunkelrot färbende Protoplasma-Masse, in der sich noch zwei dunklere keulenförmige Striche deutlich abheben. Es ist dieses bekanntlich der Inhalt des Pollenschlauchendes, welcher sich in eine der Synergiden ergossen hat. In allen späteren Stadien findet man denn auch diese trübe Inhaltmasse an Stelle dieser Synergide wieder. Der Pollenplasmastrom umfliesst die andere Synergide im Bogen und liegt mit breitem Ende nach der Mitte des Embryosackes hin.

Blackmann und Welsford (1913; 1914) geben an, der Pollenschlauchinhalt würde sich immer in eine Höhlung zwischen dem Eiapparat und dem Protoplasten des Embryosackes ergiessen. Im Gegensatz hierzu glaube ich aus meinen Präparaten schliessen zu können, dass er den Inhalt der vernichteten Synergide sogar z. T. vor sich hin in das Protoplasma des Embryosackes hineinstösst. Eine wirkliche Lakün an der genannten Stelle wird doch wohl immer Artefakt sein, durch Kontraktion beim Fixieren entstanden.

Die eigentümliche trübe Masse im Embryosackplasma ist genau dieselbe, wie die, welche man auch im Ende des Pollenschlauches beobachtet. Oft genug z.B. im Präparate der Fig. 14, sah ich beide kontinuierlich in einander übergehen.

Ob wirklich der Pollenschlauch eine Strecke weit in den Keimsack hineinwächst, ehe er sich öffnet, ist aus meinen Präparaten schwer zu ersehen. In der Fig. 16 z.B.

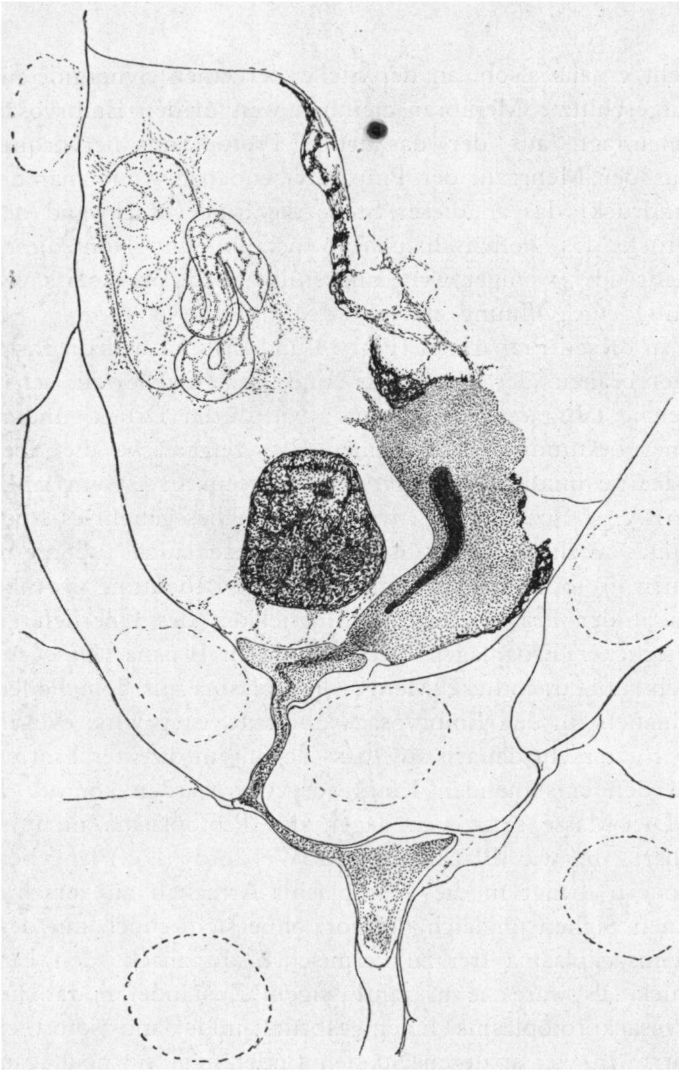


Fig. 14. Mikropylares Ende des Embryosackes von Lilium martagon, sofort nachdem die Spermakerne zum Eikern und Polkerne angelangt sind. Eingedrungenes Pollenschlauchplasma mit einem der beiden X-Körper (der Andere liegt im nächsten Schnitte der Serie); die erhaltene Synergide; Reste des Kernes der zerstörten Synergide; Wandungen der Eizelle und der Synergide. Der Eikern und Spermakern sind vom nächsten Schnitte an der richtigen Stelle eingezeichnet worden. Zeiss Apochr. Imm. 2 mM. Komp. Ok. 12. Vergr. 1600 ×.

sieht es aus alsob, an der Stelle der einen Synergide eine aufgeschlitzte Membran ziemlich weit in den Embryosack hineinragt, aus der das trübe Protoplasma hervorquilt. Aus der Mehrzahl der Präparate jedoch gewinnt man den Eindruck, das an dieser Stelle die Embryosackwand dem Druck des Pollenschlauches nachgibt und von diesem mehr oder weniger weit eingestülpt wird, ohne dass vorlaufig eine Öffnung entsteht. (s. Fig. 14).

In diesen Präparaten (Fig. 14 und 15) sind auch die zarten Membranen der Synergide und der Eizelle zu sehen, welche faltig eingebogen sind, wie durch Druck, und an einer bestimmten Stelle einen Riss zeigen, wo die Spermakerne hindurch passiert sein müssen. Er ist ein langer gerissener Spalt, nicht etwa ein ründliches gebohrtes Loch.

Das Verhalten des aus dem Pollenschlauche übergetretenen Protoplasmas ist nicht ganz ohne Bedeutung in Anbetracht der Frage nach der Möglichkeit des Überlieferens väterlicher Erbanlagen direkt mit dem Plasma. Dass eine nicht unbeträchtliche Menge Protoplasma aus dem Pollenschlauche in den Embryosack übertritt, ist gewiss; es sieht aber gar nicht danach aus, dass davon ein direkter Einfluss auf den entstehenden Keim ausgeübt werden könnte.

Die Masse setzt sich gegen das Protoplasma nicht so scharf ab, wie Blackman und Welsford (l. c.) angeben, sondern dringt in die Protoplasma-Ärmchen an verschiedenen Stellen ungleich tief vor, ohne sich jedoch mit dem Keimsackplasma frei zu vermischen. Es macht den Eindruck, als wäre sie in zähflüssigem Zustande in das Embryosackprotoplasma hineingespritzt und dann sofort erstarrt. In viel späteren Stadien findet man sie noch ganz unverändert neben dem auswachsenden Keime wieder.

Die X-Körper.

In diesem erstarrten Protoplasmatropfen fand ich immer die beiden, von Nawaschin (1909 und 1910) X-Körper

genannten fraglichen Gebilde — (s. Fig. 13 u. 15, die schwarzen Striche) — abgesehen von einigen seltenenen Fällen, wo sich nur eins auffinden liess.

Bei Nawaschin finde ich keinen Versuch, die X-Körper

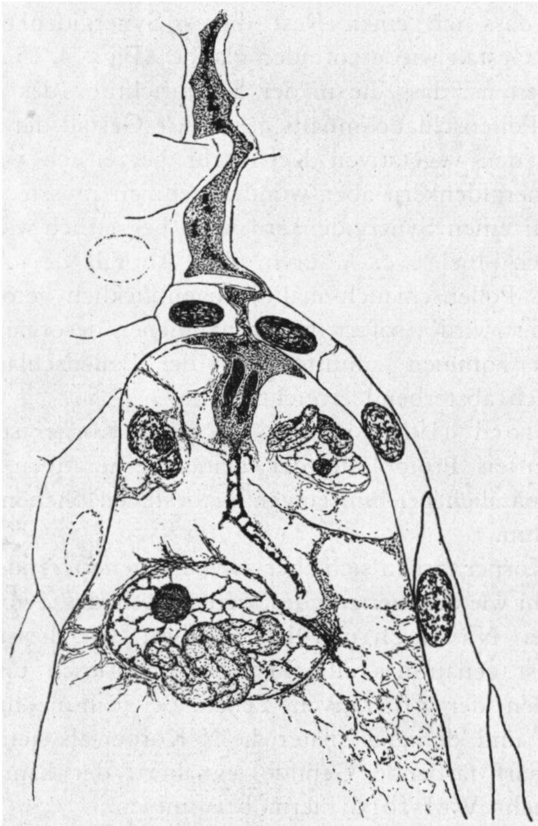


Fig. 15. Mikropylarer Teil eines Keimsackes, während der doppelten Befruchtung wie Fig. 14; Pollenschlauch-Plasma mit X-Körpern und schwarzen Partikelchen; Membranen der Synergiden und der Eizelle eingerissen; Kernrest der zerstörten Synergide. Vergr. 780 ×.

zu deuten. Ich möchte behaupten, dass diese beiden Körper aus dem vegetativen Pollenschlauchkerne entstehen.

Juel (1907) äusserte die Meinung, es seien die beiden X-Körper der Kern der vernichteten Synergide und der vegetative Pollenkern. Hiergegen möchte ich anführen zuerst, dass ich einen Rest dieses Synergidenkernes in anderer Gestalt wiederzufinden glaube (Fig. 14, 15 und 16), und zweitens, dass die in der Stromrichtung des einfliessenden Pollenschlauchinhalts gestreckte Gestalt der X-Körper für den vegetativen Kern sehr begreiflich wäre, für den Synergidenkern aber wunder nehmen müsste. Ebenso ist es für einen Synergidenkern nicht begreiflich wie dieser, der nach Juel l. c. „durch den Anprall des Ausströmenden Pollenschlauchinhaltes augenblicklich getötet und deformiert wird", sofort in den nämlichen desorganisierten Zustand kommen könntte, den der Pollenschlauchkern allmählich absterbend erreicht hat.

Welsford (1914) nimmt an, die X-Körper seien die abgestreiften Protoplaste der beiden generativen Zellen, welche nämlich bei him länger fortbestehen blieben als bei Nawaschin.

Die Körper färben sich aber so wie degenerierende Kerne und nicht wie degenerierendes, sich auflösendes Zytoplasma. Wer bei Nawaschin (1910) nachliest, wie dieser Autor peinlichst genau das allmählich sich Auflösen und Verschwinden der generativen Zellen bei Lilium martagon verfolgt und dennoch später die X-Körper als sich dunkel und scharf färbende Gebilde signaliert, der kann schon nicht mehr Welsford hierin beistimmen.

Die zitierte Deutungen der X-Körper verwerfend, nehme ich an, dass die beiden Körper vom vegetativen Kern des Pollenschlauches stammen, der sich in den Fällen, wo man zwei Körper findet — also bei Lilium martagon regelmässig — im Pollenschlauche amitotisch geteilt hat.

Für diese Annahme spricht zuerst die völlige Gleichheit

der beiden fraglichen Gebilde und die Übereinstimmung in der Färbung nach den verschiedensten Färbungsmethoden mit anderen degenerierenden und sich amitotisch teilenden Zellkernen, z. B. denjenigen der unteren Antipoden.

Anderseits hat schon Strasburger (1908) angegeben, dass bei Lilium martagon eine Amitose des vegetativen Kernes stattfindet. In seiner Fig. 29 bildet er n.l. eine solche Amitose ab. Er hält diese allerdings für einen abnormen Ausnahmefall. Die Abnormalität des betreffenden Pollenkornes liegt aber einzig darin, dass der Pollenschlauch am Auswachsen verhindert worden war und der vegetative Kern sich wie der generative im Pollenkorn zu teilen anfing, statt erst im fertigen Pollenschlauche. Bei Welsford (1914) findet man den vegetativen Kern als „lobed" gar ziemlich tief eingeschnitten abgebildet und beschrieben.

Es scheint mir also nicht sonderlich gewagt zu behaupten, auch ohne es bis jetzt direkt gesehen zu haben, dass der vegetative Kern kurz vor der Befruchtung im Ende des Pollenschlauches eine amitotische Teilung durchmacht und dadurch die beiden X-Körper liefert.

Die Fig. 14 erbringt den Beweis, falls es eines solchen noch bedürfte, dass die X-Körper aus dem Pollenschlauche stammen und dass sie daraus mit oder hinter den Sperma-Kernen austreten. Der zweite X-Körper ist in dieser Fig. nicht hineingezeichnet worden, er liegt n.l. im nächsten Schnitte der Serie.

Ausser den zwei X-Körpern sieht man im Pollenschlauchende oft noch kleine sich dunkel färbende Partikelchen, welche bisweilen auch, in den Embryosack übergetreten, in der Nähe der kopulierten Eizelle liegen. Blackman u. Welsford geben diese gleichfalls an und möchten sie als Reste eines Blepharoplasten deuten. Andere Deutungen wären vielleicht wahrscheinlicher (als extranucleare Nucleolen oder als weitere Teile eines vielleicht fragmentierten

Pollenschlauchkernes) sind aber ohne nähere Gründe vorläufig wohl zwecklos.

Den eigentümlichen, Zebra-ähnlich gestreiften Fetzen der Fig. 14 und 15, welcher hinter dem Spermakerne mitgeschleift worden zu sein scheint, halte ich für einen Rest des Kernes der zerstörten Synergide, weil die Färbung der des Chromatins im anderen Synergidenkern ähnlich ist. Solchen Streifen findet man oft an der oberen, chalazalen Seite der Eizelle an deren Peripherie entlanggestreckt.

Die Gestalt der eben eingeführten generativen Kerne.

Von den eben in den Embryosack hineinbeförderten, noch frei liegenden männlichen Kernen kann ich in meinen Präparaten nicht so schöne Bilder vorzeigen, wie sie Nawaschin (1909) und Blackman u. Welsford (1913) geben. Wohl habe ich beim Fixieren ein paar Maal den Zeitpunkt getroffen, in dem die generativen Kerne ihren Zug zu den Befruchtungskernen soeben angefangen haben.

Nawaschin (1909) folgert bekanntlich aus der Gestalt der Sperma-Kerne deren aktive Bewegung, sodass sie sich selbständig nach den Ei- und Polkernen hinschrauben würden. Blackman u. Welsford stimmen ihm bei.

Ich kann nicht umhin zu bemerken, dass dagegen die Spermakerne in meinen Präparaten, z. B. in dem der Fig. 16, gar nicht den Eindruck aktiver Bewegung machen. Man sieht nicht die Gestalt eines kriechenden bezw. bohrenden Wurmes, sondern die eines zusammengeknäuelten in der Winterruhe. Das Bild legt eher den Gedanken an einen Transport mittels Protoplasmaströmchen nahe, wie ihn Strasburger bei Monotropa beobachtet hat, als die Nawaschinsche Korkzieherbewegung. Der eventüelle Vorwurf einer schlechten Fixierung als Ursache dieser Gestalt trifft nicht zu; der Embryosack ist gerade sehr gut fixiert worden.

In einer anderen Präparaten-Serie habe ich noch ein paar Mal dasselbe Stadium, oder ein sehr wenig späteres

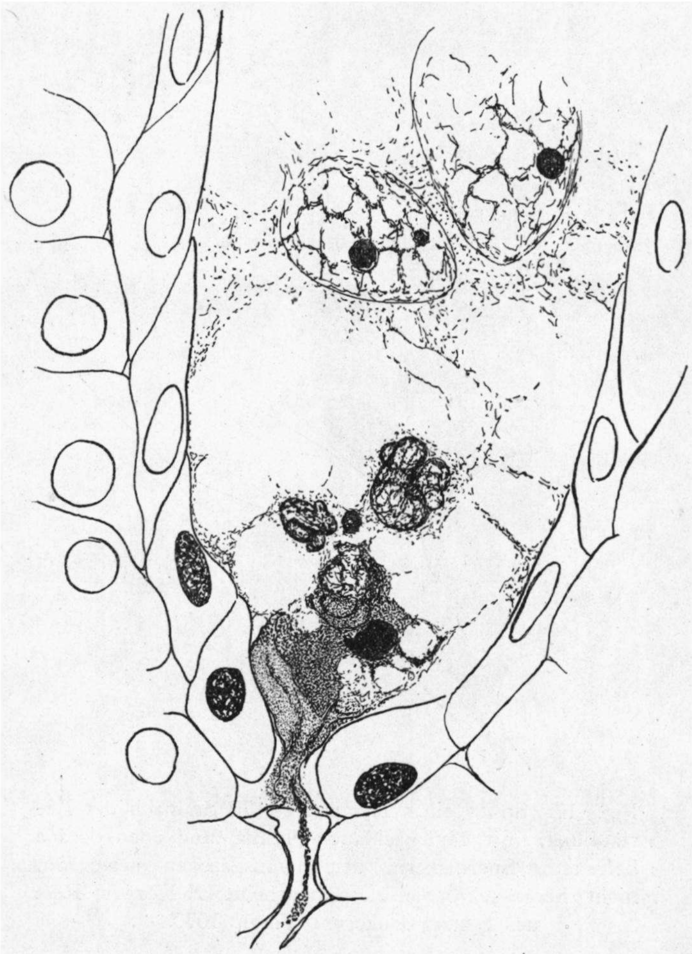


Fig. 16. Embryosack mit eingedrungener Pollenschlauch-Spitze; Rest des Synergidenkerns; die Spermakerne von einander getrennt, aber noch zusammen geknäuelt; die zwei Polkerne. Vergr. 760 ×.

angetroffen, wo der eine Spermakern noch nicht am Ziel angelangt, sich im Plasma des Embryosacks befindet. Dieser zeigt sich hier (Fig. 17) nicht zusammengerollt,

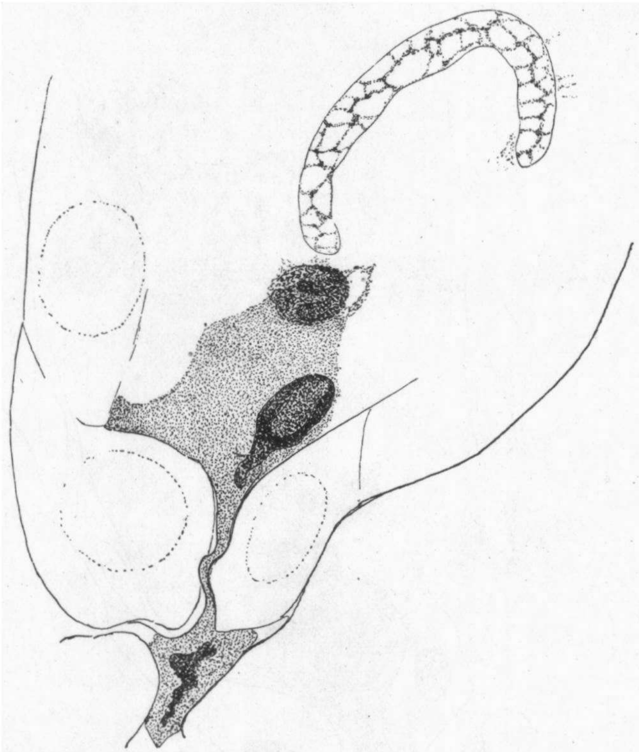


Fig. 17. Spitze eines Keimsackes, 70 St. nach der Bestäubung, mit Pollenschlauch-Plasma und eben daraus befreitem Spermakern, der herausgezogen geworden, nicht herausgekrochen zu sein scheint; X-Körper; Rest des Synergidenkerns? Vergr. 1070 ×.

wie oben erwähnt, sondern sogar langgestreckt, macht aber dadurch noch weniger den Eindruck der aktiven Bewegungsmöglichkeit. Es sieht vielmehr danach aus, dass er von Protoplasma-Strömchen mitgezogen, geradezu mitge-

zerrt, und dadurch aus dem Stand der Fig. 16 in den der Fig. 17 gebracht wurde. Er wird allerdings stark verkürzt gesehen, ist jedoch vom Messer nicht berührt worden, denn er bleibt ganz frei von den beiderseitigen Schnitt-Ebenen.

Die betreffenden Präparate sind zwar ebenfalls sehr gut fixiert, beide aber beim Schneiden unglücklich getroffen worden, auch bei der weiteren Behandlung nicht so gut gelungen, dass sie übersichtliche Bilder darbieten, obgleich die Gestalt des Spermakernes sich ziemlich gut abhebt.

Obwohl ich also nach diesen Beobachtungen nicht mehr von einer selbständigen Bewegung der freien Spermakerne überzeugt bin, kann ich in dieser interessanten Frage meine Präparate nicht als ausschlaggebend gegen die schönen und scharfsinnig interpretierten Bilder Nawaschins betrachten.

Spätere Stadien nach der Befruchtung.

Die wurmförmige Gestalt der eben ans Ziel gelangten männlichen Kerne wird offenbar nicht lange beibehalten. In Präparaten, welche 90 Stunden nach der Bestäubung fixiert wurden, ist meistens schon nicht viel mehr davon zu sehen. In der Mikrophotographie der nach einem besonders klaren und glücklich getroffenen Schnitte angefertigten Fig. 4, sieht man, durch Zufall fast in derselben Fokusebene, von oben bis unten: das Ende des Pollenschlauches; ganz dunkel den ausgetretenen Inhalt desselben; daneben, die intakt erhaltene Synergide; darunter, die Kopulation des Eikernes mit dem einen, ihm schon beinahe gleich gestalteten, generativen Kerne; dann den grossen Komplex der beiden Polkerne mit dem zweiten, deutlich noch etwas wurmförmigen männlichen Kerne; ganz unten endlich die degenerierten Antipoden. Sogar noch in diesen Stadien kann man u.A. mit Erythrosin-Cyanin einen deutlichen Kontrast in der Färbung erreichen zwischen den

männlichen Kernen und den weiblichen, an die sie sich angepresst haben.

Die Teilung im jungen Pollenkorn.

Die Mikrophotogramme der Fig. 5 und 6 werden hier hinzugefügt, um auch von diesen Stadien mal photographische Abbildungen zu veröffentlichen. Die Fig. 5 giebt die Anaphase der ersten Mitose im Pollenkorn; die Fig. 6 die daraus entstandenen vegetative und generative Kerne, letztere mit dem längsfaserigen Protoplasten.

Die zwei Centrosomen-ähnlichen Körnchen, welche sowohl Nawaschin (1910) wie Welsford (1914) in diesem Protoplasten abbilden, sehe ich in meinen sich auf fast reife Antheren beziehenden Präparaten nie.

Zusammenfassung.

1. Lilium martagon hat in den generativen Kernen des Embryosackes die haploiden (12) Chromosomen paarweise gleichgestaltet.
2. In den Metaphasen der homoiotypischen und der einen noch folgenden Teilung legen die gleichgestalteten Chromosomen sich wenigstens zum grossen Teil auch paarweise nebeneinander.
3. Es scheinen die verschiedenen Chromosomen (-Paare) in diesen Metaphasen eine gewissermassen bestimmte Stelle in der Kernplatte einzunehmen.
4. Eine nicht unbeträchtliche Menge Protoplasma tritt aus dem Pollenschlauch in den Embryosack über; es ist aber nicht wahrscheinlich, dass durch dieses Protoplasma väterliche Erbanlagen dem Keim zugeführt werden.
5. Die zwei, in diesem Protoplasmatropfen liegenden Gebilde, die X-Körper von Nawaschin, sind durch Amitose aus dem vegetativen Kerne des Pollenschlauches entstanden.

6. Meine Präparate zeugen nicht für ein aktives Bewegungsvermögen der Spermakerne.

Literatur.

Blackman, V. N. and Welsford, E. J. 1913. Fertilization in Lilium. Ann. of Bot. XXXVII, 1913.

Clemens Müller, H. A. 1911. Kernstudien an Pflanzen. Inaugural-Diss. Bonn 1911 und Archiv. f. Zellforschung Bd. VIII, 1912.

Coulter, J. M., Chamberlain, Ch. J., Schaffner, J. H. 1897. Contributions to the life history of Lilium philadelphicum. Bot. Gaz. 23, 1897.

Grégoire, V. 1924. Les limites du mendélisme et le rôle des chromosomes dans l'hérédité. Vortrag in Amsterdam 1924.

Guignard, L. 1889. Étude sur les phénomènes morphologiques de la fécondation. Bull. de la Soc. bot. de France T. XXXVI, 1890.

——— 1899. Sur les anthérozoides et la double copulation sexuelle chez les végétaux angiospermes. Comptes rend. Acad. des Sc. Paris. t. CXXVIII, 1899.

Juel, H. O. 1907. Studien über die Entwicklungsgeschichte von Saxifraga granulata. Nov. Acta Reg. Soc. Upsal. Ser. IV, Vol. 1, 1905/07.

Kuwada, Y. 1910. A cytological study of Oryza sativa Bot. Magazine Tokyo XXIV, 1910.

Meek, Capt. C. T. U. 1912. A Metrical Analysis of Chromosome Complexes. Phil. Trans. Roy. Soc. London B. 203, 1912.

Mottier, D. M. 1898. Über das Verhalten der Kerne bei der Entwicklung des Embryosacks und die Vorgänge bei der Befruchtung. Jahrb. f. Wiss. Bot. XXXI, 1898.

——— 1904. Fecundation in Plants. Carnegie Institution. Publication No. 15. 1904.

Nawaschin, S. 1898. Resultate einer Revision der Befruchtungsvorgänge bei Lilium Martagon und Fritillaria tenella. Bull. Acad. Imp. d. Sc. de St. Pétersbourg V^e. S. Vol. IX, 1898.

——— 1909. Über das selbständige Bewegungsvermögen der Spermakerne bei einigen Angiospermen. Österr. Botan. Zeitschr. 1909, No. 12.

——— 1910. Näheres über die Bildung der Spermakerne bei Lilium Martagon. Ann. du Jardin Bot. de Buitenzorg. 3ième supplément II, 1910.

——— 1912. Dimorphie des Kernes in den somatischen Zellen bei Galtonia candicans. (russisch). Bull. Acad. Imp. de Sc. de St. Pétersbourg, 1912.

Nothnagel, M. 1918. Fecundation and formation of the primary endosperm nucleus in certain Liliaceae. Bot. Gaz. 66, 1918.

Sargant, E. 1896 *a*. Direct nuclear division in the embryosac of Lilium Martagon. Ann. of Bot. X, 1896.

——— 1896 *b*. The formation of the sexual nuclei in Lilium Martagon. Ann. of Bot. X, 1896.

Stomps, Th. J. 1910. Kerndeeling en Synapsis bij Spinacia oleracea.

Strasburger, E. 1906. Typische und allotypische Kernteilung. Jahrb. f. Wiss. Bot. XLII, 1906.

——— 1908. Chromosomenzahlen, Plasmastrukturen, Vererbungsträger und Reduktionsteilung. Jahrb. f. Wiss. Bot. XLV, 1908.

Tahara, M. 1910. Über die Kernteilung bei Morus. Botan. Magazine Tokyo XXIV, 1910.

Welsford, E. J. 1914. The genesis of the male nuclei in Lilium. Ann. of Bot. XXVIII, 1914.

Weniger, W. 1918. Fertilization in Lilium. Bot. Gaz. 66, 1918.

Erklärung der Tafel VII S 138.

Alle Figuren beziehen sich auf Lilium martagon L.

Fig. 1. Embryosack während des letzten Teilungsschrittes. Vergr. 240 ×.
Fig. 2. Homoiotypische Teilung im Embryosacke. Vergr. 250 ×.
Fig. 3. Die micropylare Kernplatte desselben Embryosackes; Paarung der Chromosomen im haploiden Kern. Vergr. 875 ×.
Fig. 4. Die doppelte Befruchtung. Vergr. 160 ×.
Fig. 5. Die Teilung im jungen Pollenkorn. Vergr. 240 ×.
Fig. 6. Reife Pollenkörner mit der generativen Zelle und dem vegetativen Kern. Vergr. 240 ×.